PROF. O. CASAGRANDI

STUDI SUL VACCINO

Esperimenti di vaccinazione con vaccino filtrato attraverso le Berkefeld W

Istituto d'Igiene della R. Università di Cagliari

Studî sul vaccino

Esperimenti di vaccinazione con vaccino filtrato attraverso le Berkefeld W

per il prof. **O. CASAGRANDI.**

Tutte le ricerche da me fatte in questi ultimi anni sul vaccino mi conducevano ad ammettere con sicurezza:

1° la possibilità di ottenere del pus vaccinico attivo sulla cute dei cani e sulla cornea dei conigli, assolutamente privo di batteri, filtrandolo, previa accurata triturazione e diluizione in Na Cl al 0.85 per cento, attraverso le Berkefeld *W* e le Chamberland *F*;

2° la possibilità di ottenere l'immunizzazione dei cani con vaccini, che non producevano pustole sulla cute di questi animali, ma solo papule e a volte neppure queste.

Stando così le cose doveva necessariamente vedere come si comportasse verso l'uomo la vaccinazione a mezzo di vaccino filtrato.

Data la possibilità del passaggio del virus attraverso le candele porose, sostituendo la vaccinazione coi filtrati, mi pareva dovesse conseguirne un notevole perfezionamento nella tecnica della preparazione del vaccino e un notevole progresso in quella della vaccinazione.

Sarebbe stato infatti possibile sostituire all'ordinaria polpa vaccinica, un liquido privo di batteri e di cellule e contenente soltanto l'agente dell'infezione. Nè dalle raccolte di vaccino si sarebbe ricavato minore quantità di materiale, ma assai di più, perchè si sarebbe potuto utilizzare anche la parte, che di solito residua nel cribro e d'altro canto si sarebbe potuto diluire il pus triturato assai più che non si faccia attualmente.

Le prime vaccinazioni fatte coi filtrati ottenuti da me attraverso le candele Berkefeld comuni nel 1903, eseguite accuratamente dal Santori F., non condussero a risultati confortanti. Il filtrato nulla produsse sulla cute dei bambini, e in questi dopo vario tempo, e precisamente 20-30 giorni, rivaccinati con polpa vaccinica ordinaria del vaccinogeno Leoni, si produssero tipiche pustole corrispondentemente ai punti scarificati. L'inoculazione del filtrato non aveva dunque immunizzato i bambini; nè l'esito negativo della vaccinazione col filtrato, dice il Santori, poteva addebitarsi ad una refrattarietà naturale dei bambini verso l'infezione.

Altre vaccinazioni eseguitemi per cortesia dal collega prof. Biagi, con vaccino del municipio di Roma filtrato, non produssero alcun fatto locale nei bambini, nè impedirono che questi rivaccinati con polpa vaccinica attiva, dopo 15 giorni, presentassero delle pustole nei punti scarificati.

Erano fin qui, però, esperimenti eseguiti con filtrati che non producevano nè papule, nè pustole sulla cute dei cani.

Volli quindi, appena se ne presentò l'occasione, ripeterli con filtrati capaci di produrre delle pustole sulla cute dei cani.

Nell'agosto del 1905, con un filtrato W, che mi ero portato a Catania da Cagliari fin dagli ultimi di luglio, e che era capace di produrre delle pustole sulla cute dei cani, ho inoculato per scarificazione la cute di un braccio di un bambino. Ma nulla si produsse localmente, mentre 21 giorni dopo rinoculato con vaccino di cavia, ho ottenuto pustole in ambedue i punti scarificati.

L'esito di questi esperimenti fu quindi identico a quelli eseguiti dal Santori e dal Biagi.

A tutti però si poteva muovere l'obbiezione, che non fosse sufficiente fare l'innesto col filtrato in 2 o 3 punti soltanto della cute, che fosse insomma troppo poco il virus inoculato.

Esperimenti con un vaccino concentrato nel vuoto avevo però già fatto, nell'aprile 1905, vaccinando un altro bambino con risultato del tutto negativo nel senso che rivaccinato con polpa vaccinica attiva, questa attecchì.

D'altro canto, il piccolo numero delle scarificazioni eseguite, da alcuni esperimenti sui cani, mi risultava non avere importanza. Le riferisco.

Un cane venne scarificato sulla cute dell'addome in 10 punti con un filtrato W che aveva prodotto delle papule e delle pustole sulla cute dell'addome di un cane sano, e un secondo cane con lo stesso filtrato venne scarificato in due punti soltanto.

Orbene, in tutti i punti scarificati già nella 3ª giornata si notava la formazione di papule, ma specialmente rigogliose nel secondo cane. Sette di esse nel primo cane divennero il 6º giorno delle pustole.

Guarite del tutte le lesioni, s'inocularono i due cani, sempre sulla cute, con vaccino del vaccinogeno di Pavia: in nessuno dei cani si formarono pustole.

La vaccinazione col filtrato W era dunque stato sufficiente ad immunizzarli, pure essendo stata fatta in soli due punti.

Del resto gli esperimenti eseguiti sull'uomo conducono a ritenere che una sola pustola è sufficiente a determinare l'immunità, purchè però la rivaccinazione non venga eseguita nei primi giorni dall'avvenuto innesto del pus vaccinico.

L'obbiezione da me mossa agli esperimenti fatti non aveva quindi quell'importanza che a tutta prima si supponeva.

***

Intanto, considerando il fatto ammesso da tanti, che senza la produzione della pustola non si può avere un'immunità nell' uomo, e tenendo presente alcuni esperimenti fatti da altri autori, i quali asportando il materiale pustolare man mano che si formava, riuscirono a non ottenere l'immunità nei bambini (Tedeschi), pensai che, dopo tutto, vaccinando coi filtrati l' uomo non mi ero messo in queste condizioni, poichè nessuno dei filtrati inoculati nell'uomo, si era dimostrato capace di produrre in esso delle pustole.

Ed allora, tornando sul concetto che già mi era formato, dell'intervento nell'etiologia della pustolosi dei piogeni, pensai di procedere a vaccinazioni con quei filtrati che risultassero contenere quel particolare microrganismo piogene aureo che, a mio avviso, è il più comune se non il solo germe che interviene a determinare la fase pustolare della lesione cutanea vaccinica.

Non volendo, per ragioni ovvie, eseguire una vaccinazione con filtrato vaccinico sterile, emulsionandovi del micrococco, sia pure reso incoltivabile, facendolo dimorare in glicerina alcuni giorni a 37°, mi riportai a un esperimento eseguito, tra gli altri, nel marzo 1905, esperimento che avevo considerato perduto per lo scopo per cui allora l'avevo eseguito, ma che per il presente risponde benissimo.

Esso è il seguente:

Il 10 marzo 1905 si precipita col siero del cane trattato con filtrato W di vaccino di Pavia, un filtrato dello stesso vaccino che aveva lasciato sterili i terreni di coltura.

Dopo 24 ore si forma un leggero deposito, che si solleva e intorbida il liquido smuovendo il tubo, tanto che occorrono 6 giorni ancora per ottenerlo depositato.

Il 17 marzo si decanta il liquido, si aggiunge al deposito qualche goccia di glicerina sterile e il 3 aprile si vaccina con esso un bambino.

Il 5 aprile appaiono già papule e il 7 aprile le pustole sono già sufficientemente sviluppate.

Frattanto io il 2 aprile procedeva a esami microscopici del liquido glicerico rimasto entro il tubo e con mia meraviglia notavo la presenza di numerosi e piccoli cocchi aventi lo stesso aspetto del solito cocco del vaccino.

Innestai subito il materiale in brodo in due sacchetti di collodion che tenni per 5 giorni nel peritoneo dei conigli. Dal contenuto di questi tubetti feci quindi passaggio in agar a becco di clarino e in brodo.

Ottenni, senz'altro, rigogliose colture del micrococco aureo, che mi fu facile identificare con quello ordinariamente esistente nel vaccino.

Intanto il 4 maggio il bambino veniva rivaccinato con polpa vaccinica attiva di Pavia, *ma questa volta con esito del tutto negativo.*

Dopo di che la conclusione da trarsi da questi esperimenti parrebbe questa, che *la immunità contro il vaccino si ha nell'uomo quando l'esito della prima vaccinazione è l'eruzione pustolare nei punti scarificati.* Questo, però, *finchè si riterrà che la pustola sia la lesione vaccinica;* ciò che a mio avviso non risponde ai risultati delle più recenti ricerche mie e di altri.

Anzitutto il fatto da me assodato e che ho riportato in principio di questo lavoro, che i cani si possono immunizzare per mezzo di filtrati che producono la sola papulosi e che anche non la producano, contraddice quello della necessità della formazione delle pustole per ottenere la immunità, tanto sostenuta dal Pfeiffer.

D'altro canto di recente il Kraus e Volk (Wien. Klin. Woch., n. 21) hanno fatto un esperimento oltremodo dimostrativo: hanno, cioè veduto che innestata la cute di scimmie con vaccino e asportata la parte della cute anche semplicemente arrossata, prima cioè che si formasse persino la papula, la pelle aveva acquistata l'immunità contro il vaccino. In altri termini hanno anche essi dimostrato che la formazione della pustola non è necessaria per la produzione della immunità. E questi AA. sono stati tanto sicuri dei loro risultati da pensare a utilizzarli in pratica, in modo da fare la vaccinazione senza produrre la pustola. Diluendo opportunamente la linfa avrebbero trovato che basterebbe inocularla sottocute per ottenere tale risultato, senza avere nè fenomeni generali nè fenomeni locali.

Gli esperimenti quindi eseguiti da me sui cani e da Kraus e Volk sulle scimmie condurrebbero, non v'ha dubbio, a ritenere che in questi

animali sia del tutto inutile, per avere l'immunità ottenere la pustolosi cutanea.

Però se dal cane e dalle scimmie vogliamo trasportare queste medesime conclusioni all'uomo, non si può con sicurezza affermare che i fatti decorrano nello stesso modo.

Certamente intanto, l'uomo di fronte al virus vaccinico bovino si diporta diversamente dal cane.

A suo tempo per rilevare che i cani inoculati con il liquido che si ottiene dal vaccino pressato, diluito con NaCl al 0.85 % in date diluizioni, non contraggono più l'infezione pustolare sulla cute, ma però possono ancora immunizzarsi.

Le medesime prove fatte sull'uomo con quelle diluizioni limiti di vaccino che immunizzano la cute dei cani, non immunizzano invece l'uomo. Queste prove sono state fatte dal Santori nel 1903 e da me riportate sommariamente: egli trovò che il diluito dalle proporzioni 1 : 50 in su, non produceva più pustole sul braccio dei bambini, nè li immunizzava contro una seconda vaccinazione fatta a 23 giorni di distanza dalla prima.

Quelle sui cani sono state fatte da me con diluito nei rapporti da 1 : 10 a 1 : 250. Il diluito 1 : 150 diede ancora delle pustole sulla cute dei cani.

Questi risultati messi assieme a quelli ottenuti coi filtrati che immunizzavano i cani e non l'uomo, mi fecero concludere che *il cane si diporterebbe di fronte all'inoculazione preventiva di vaccino filtrato o diluito diversamente dall'uomo: quei filtrati o quelle diluizioni che immunizzano il cane non immunizzano l'uomo.*

Del resto di fronte al vaccino non tutti gli animali si comportano ugualmente.

Anche i bovini per altri riguardi, di fronte all'immunità vaccinica si diportano diversamente dall'uomo.

Vi sono infatti autori, che affermano che la inoculazione sottocutanea di pus vaccinico bovino immunizza gli animali dall'inoculazione cutanea di vaccino, già dopo 48 ore, mentre l'uomo sia inoculato sottocute, con vaccino bovino, sia con vaccino immunizzato, non si immunizza anche se la vaccinazione cutanea si fa 15-21 giorni dopo la inoculazione nel sottocutaneo (Tedeschi).

I bovini alla loro volta si diporterebbero, sempre di fronte allo stesso vaccino bovino diversamente dal cane.

Il Waele e Sugg (1) sarebbero riusciti infatti a immunizzare i bovini introducendo sotto la pelle sacchetti di collodion della capa-

(1) *Sur la production de l'immunité par la méthode des sacs de collodion* (C. R. Soc. Biologie, 24 dicembre 1904).

cità di cmc. 0.3-0.5 contenenti vaccino sospeso nel brodo, tenendoli in sito per 3 giorni in un caso e per 7 in un altro, e si sarebbero accertati che gli animali erano immunizzati, perchè rivaccinandoli dopo 8 giorni l'uno e dopo 10 l'altro, l'esito della vaccinazione fu negativo.

Ripetendo io la stessa prova sopra un cane, tenendo nel suo sottocutaneo per 7 giorni due sacchetti di collodion, contenenti brodo con polpa vaccinica attiva e poi rivaccinando l'animale con la stessa polpa 10 giorni dopo, ho veduto svilupparsi nei punti inoculati delle pustole vacciniche (in 6 su 11).

Di guisa che volendo tradurre nella pratica la vaccinazione coi filtrati è necessario tenere anche presente che l'uomo di fronte all'immunità vaccinica si diporta diversamente dal cane e dai bovini, i quali in massima sono più ricettivi dell'uomo.

Conclusioni.

I filtrati di vaccino bovino che immunizzano i cani verso l'infezione vaccinica, sia che non producano alcun fatto locale, sia che producano anche delle pustole, non hanno provocato sulla cute del braccio dei bambini alcuna lesione e non hanno impedito, anche se usati concentrati nel vuoto e a bassa temperatura, il risultato positivo della rivaccinazione con vaccino non filtrato.

Si è potuto ottenere l'immunità verso l'infezione vaccinica cutanea con la polpa vaccinica non filtrata, inoculando filtrati vaccinici contenenti il micrococco piogene aureo che comunemente si trova nei vaccini.

Non è ammissibile che l'immunità vaccinica debba essere legata nell'uomo alla produzione di una vera pustolosi vaccinica, dal momento che i cani (Casagrandi) possono benissimo immunizzarsi coi filtrati, neppure capaci di produrre una pustolosi e che le scimmie (Kraus e Volk) sono già immunizzate quando si è prodotto semplice arrossamento della cute. Ciò non esclude, però, che, volendo mantenere come segno della conseguita immunità vaccinica, la pustolosi cutanea, l'uomo, in riguardo all' immunità verso il vaccino bovino, si diporta diversamente dal cane e da bovini stessi: quei filtrati che immunizzano il cane non immunizzano l'uomo; le diluizioni limiti dei vaccini pressati che immunizzano il primo, non immunizzano il secondo: l'uomo non si immunizza coll'inoculazione sottocutanea di vaccino anche se umanizzato, mentre con questo metodo si immunizzano i bovini e le scimmie.

Estratto dagli *Annali d'Igiene sperimentale*, anno 1906, fasc. III.

Roma, 1906 — Tip. Nazionale di G. Bertero e C.

ERRATA-CORRIGE

pag. 608	riga	5:	*5 aprile*	corregi	*3 aprile*
» 609	»	8:	*per*	»	*feci*
» »	»	33:	*immunizzato*	»	*umanizzato*